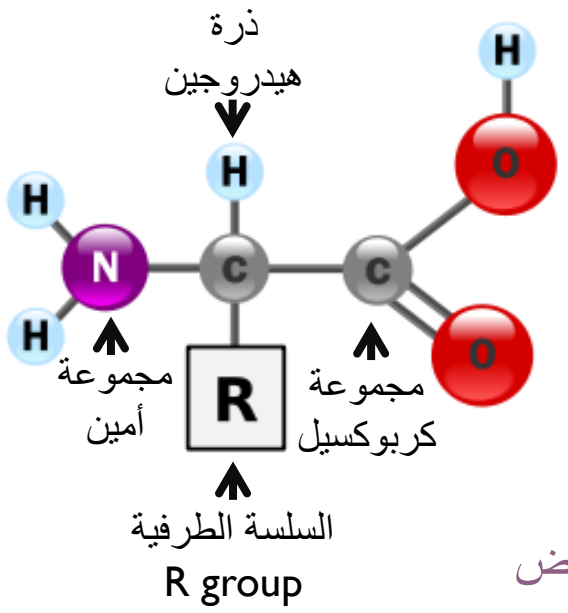
الكيمياء الحيوية العامة (كيح ١٠١)

المعمل (١)

الأحماض الأمينية

Amino Acids

ما هي الأحماض الأمينية (Amino acids)؟



- الأحماض الأمينية هي **الوحدات الأساسية** (building blocks) لبناء البروتينات.
- هناك عشرون حمض أميني فقط (من النوع ألفا α) تدخل في تركيب البروتين.
- كل حمض أميني يحتوي على :

١. مجموعة أمين (NH_2).

٢. مجموعة كربوكسيل (COOH) .

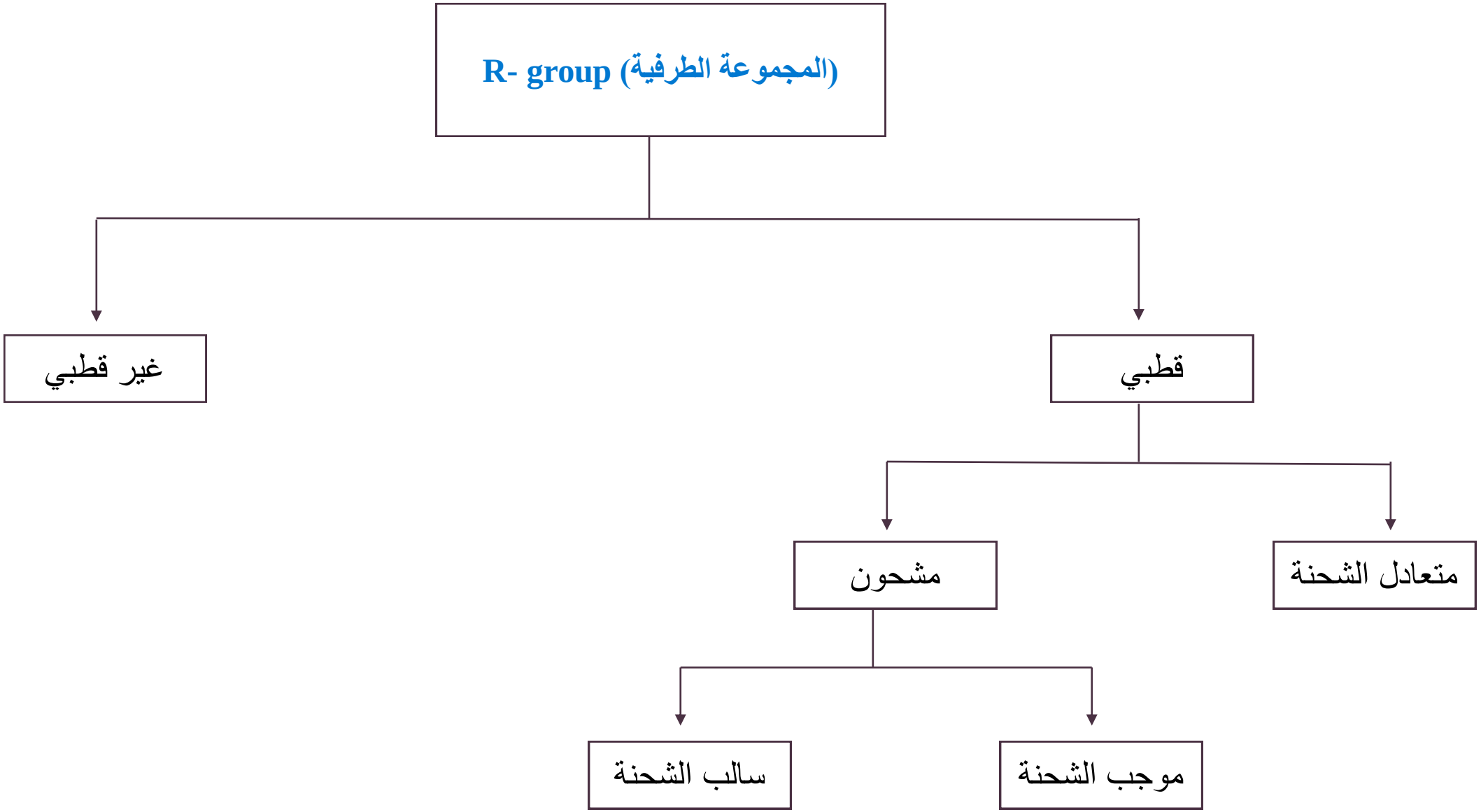
٣. ذرة هيدروجين.

٤. مجموعة طرفية تختلف من حمض إلى آخر ويرمز لها بـ R. (وهي ما يميز الحمض الأميني عن الآخر).

أنواع الأحماض الأمينية

تختلف الأحماض الأمينية باختلاف المجموعة الطرفية (R-group) ولذا أمكن تقسيم الأحماض الأمينية تبعاً لقطبية (**polarity**) تلك السلاسل الجانبية في المحاليل المائية إلى:

١. غير قطبية (Non polar).
٢. قطبية متعادلة الشحنة (Uncharged polar).
٣. قطبية مشحونة (Charged polar):
   أ. قطبية موجبة الشحنة حمضية (Basic polar –positively charged-).
   ب. قطبية سالبة الشحنة قاعدية (Acidic polar –negatively charged-).


R- group (المجموعة الطرفية)
غير قطبي
قطبي
متعادل الشحنة
مشحون
موجب الشحنة
سالب الشحنة

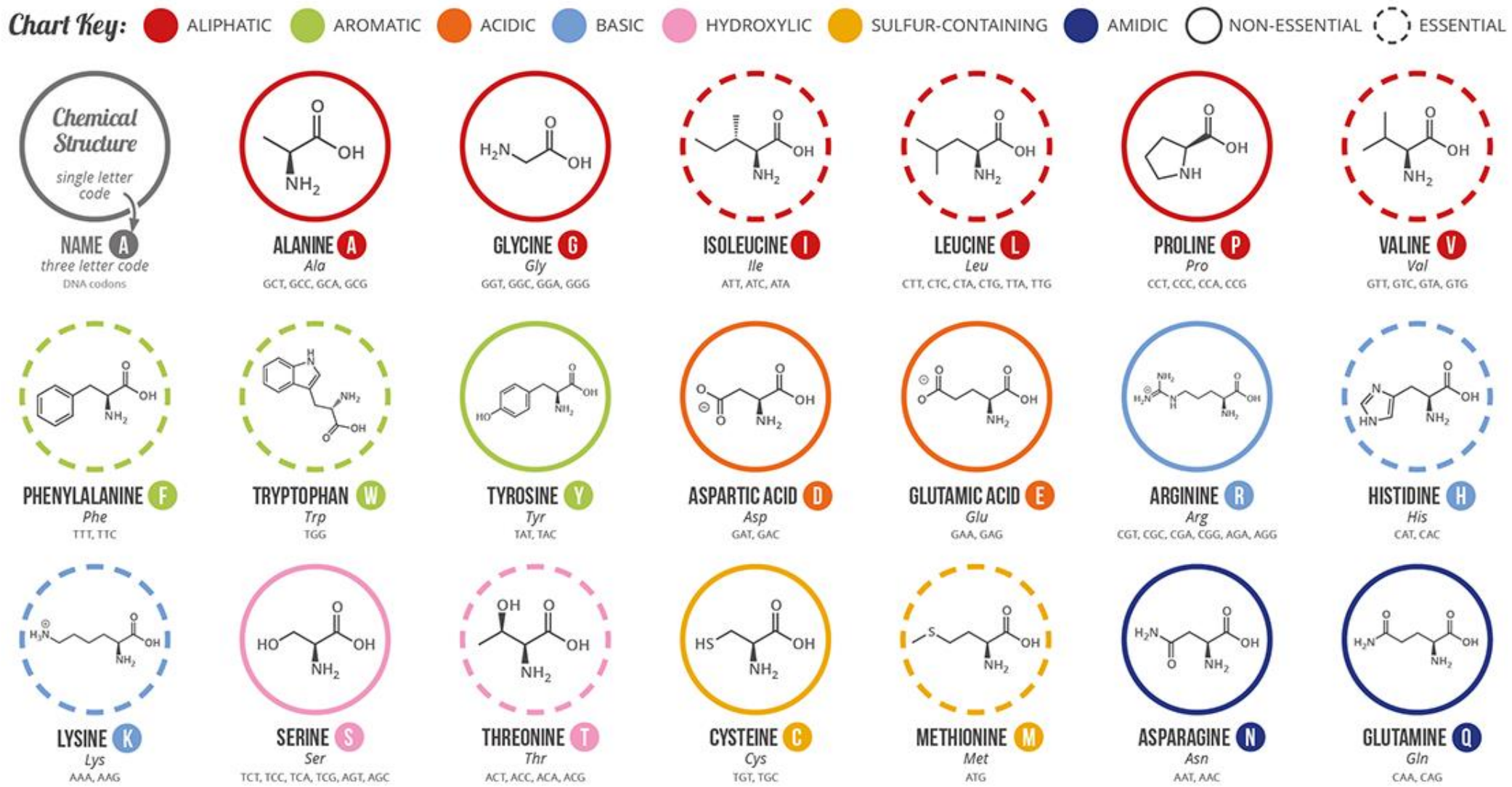
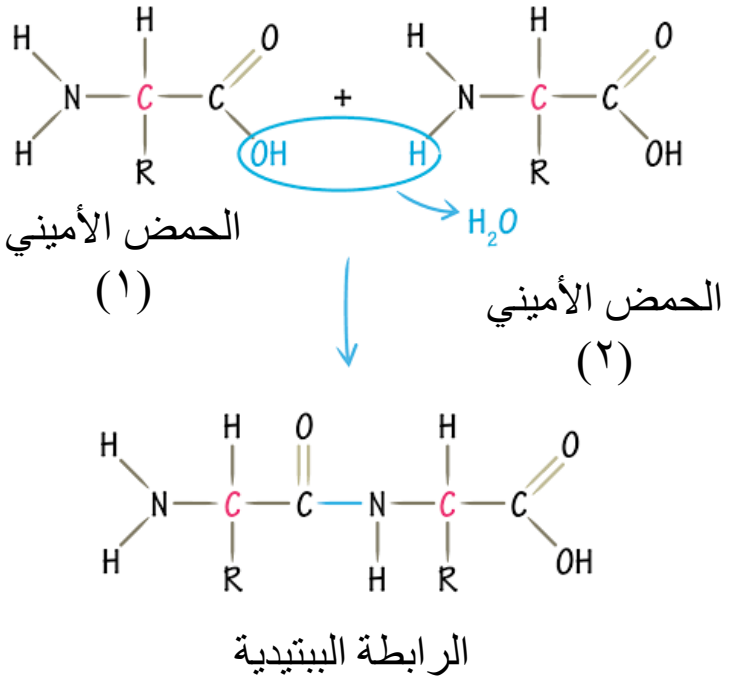


Chart Key:
ALIPHATIC
AROMATIC
ACIDIC
BASIC
HYDROXYLIC
SULFUR-CONTAINING
AMIDIC
NON-ESSENTIAL
ESSENTIAL
Chemical Structure
single letter code
NAME A
three letter code
DNA codons
ALANINE A
Ala
GCT, GCC, GCA, GCG
GLYCINE G
Gly
GGT, GGC, GGA, GGG
ISOLEUCINE I
Ile
ATT, ATC, ATA
LEUCINE L
Leu
CTT, CTC, CTA, CTG, TTA, TTG
PROLINE P
Pro
CCT, CCC, CCA, CCG
VALINE V
Val
GTT, GTC, GTA, GTG
PHENYLALANINE F
Phe
TTT, TTC
TRYPTOPHAN W
Trp
TGG
TYROSINE Y
Tyr
TAT, TAC
ASPARTIC ACID D
Asp
GAT, GAC
GLUTAMIC ACID E
Glu
GAA, GAG
ARGININE R
Arg
CGT, CGC, CGA, CGG, AGA, AGG
HISTIDINE H
His
CAT, CAC
LYSINE K
Lys
AAA, AAG
SERINE S
Ser
TCT, TCC, TCA, TCG, AGT, AGC
THREONINE T
Thr
ACT, ACC, ACA, ACG
CYSTEINE C
Cys
TGT, TGC
METHIONINE M
Met
ATG
ASPARAGINE N
Asn
AAT, AAC
GLUTAMINE Q
Gln
CAA, CAG

الرابطة الببتيدية Peptide bond

- ترتبط الأحماض الأمينية مع بعضها **بروابط ببتيدية**، بتفاعل مجموعة الكربوكسيل لأحد الأحماض الأمينية مع مجموعة أمين لحمض أميني آخر و يصاحب ذلك فقدان جزئ ماء.

تكوين الرابطة الببتيدية

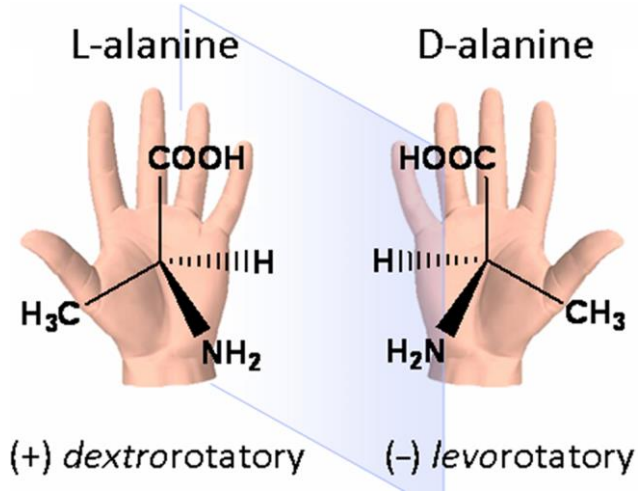


الخواص الكيميائية والفيزيائية للأحماض الأمينية

١. النشاط الضوئي Optical activity

تتميز الأحماض الأمينية بقدرتها على عمل انحراف لاتجاه الضوء المستقطب؛ لاحتوائها جميعًا (باستثناء الجلايسين) على ذرة كربون غير متماثلة (asymmetrical) مرتبطة بأربع مجاميع مختلفة.

يمكن تقسيم الأحماض الأمينية تبعًا لنشاطها الضوئي الى:



١ -الأحماض الأمينية التي تسبب دوران الضوء المستقطب لليمين:

يسمى متناظر **أيمن الدوران** و يشار له بـ (+) مثال ذلك: **(+) -α-Alanine**

٢ - الأحماض الأمينية التي تسبب دوران الضوء المستقطب لليسار:

يسمى **يساري الدوران** و يشار له بـ (-) مثال ذلك: **(-) -α -Alanine**

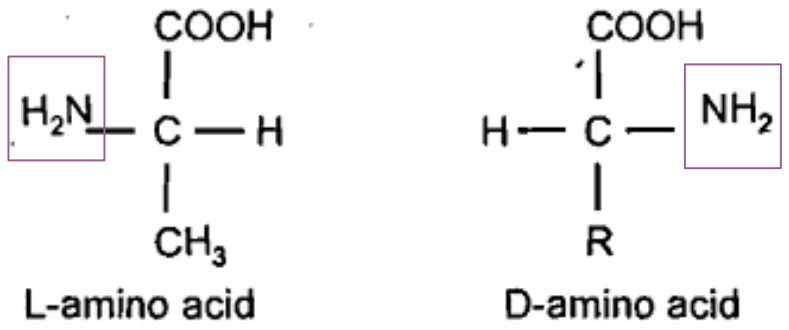
٢. التركيب الفراغي Stereochemistry

ويمكن أيضًا تقسيم الأحماض الأمينية تبعًا لتركيبها الفراغي إلى مجموعتين:

١. إذا كانت مجموعة الأمين على يمين ذرة الكربون الغير متناظرة فإن الحمض الأميني يكون من النوع (D).

٢. أما إذا كانت مجموعة الأمين على يسار ذرة الكربون الغير متناظرة فإن الحمض الأميني يكون من النوع (L).

تتميز جميع الأحماض الأمينية المكونة للبروتين بأنها من النوع **L**.



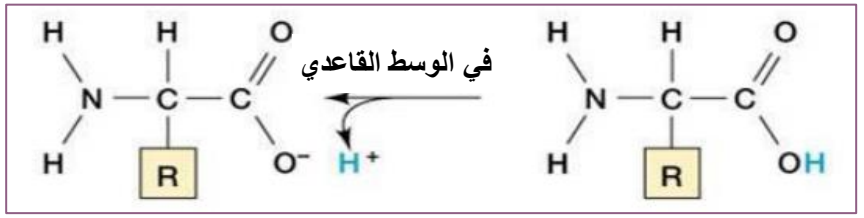
٣. الذوبانية Solubility

تتميز الأحماض الأمينية القطبية بكونها **تذوب** في الماء و يعود ذلك إلى أن المجاميع الطرفية R عبارة عن مجاميع قادرة على تكوين **روابط هيدروجينية** مع الماء.

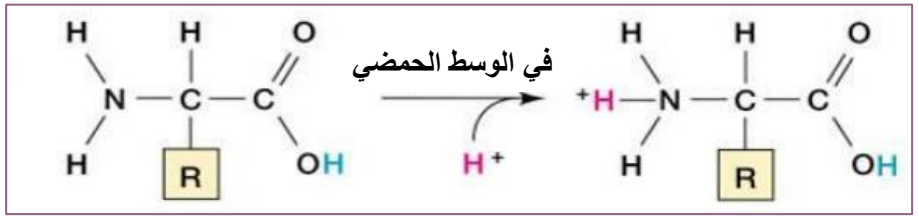
٤. الخاصية الأمفوتيرية Amphoteric

جميع الأحماض الأمينية تتميز بالخاصية الأمفوتيرية .

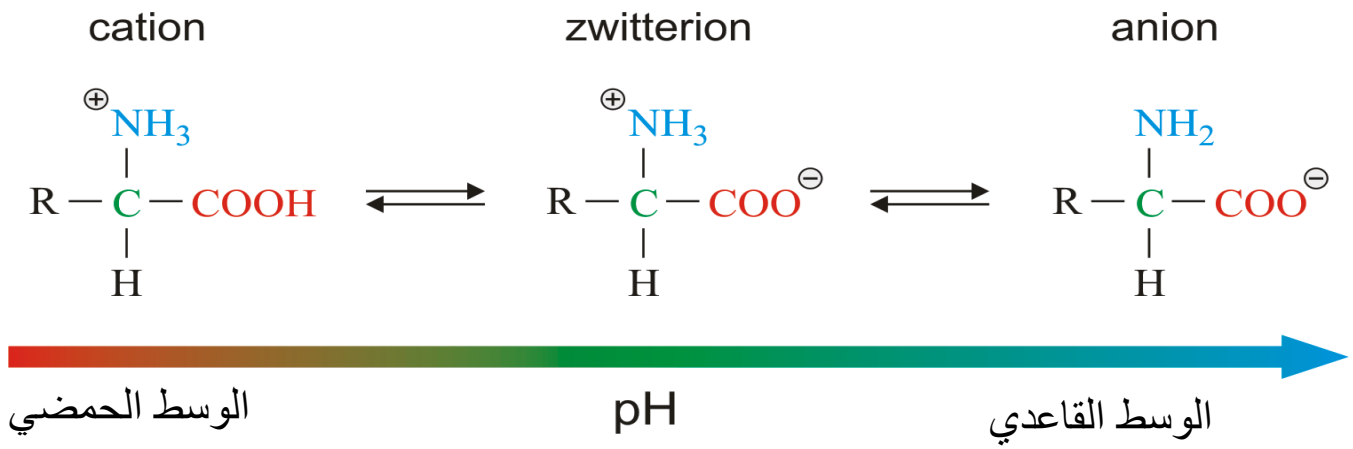
- أي أنها عندما تذوب في الماء فإنها تحمل شحنتين شحنة موجبة وأخرى سالبة مما يجعلها تعمل كحمض وكقاعدة في نفس الوقت، حيث تكتسب مجموعة الكربوكسيل الشحنة السالبة (COO^-) بينما تحمل مجموعة الأمين الشحنة الموجبة (NH_3^+).
- فهي تسلك سلوك الأحماض لوجود مجموعة الكربوكسيل (COOH ➔ COO-) ، حيث تكتسب مجموعة الكربوكسيل الشحنة السالبة (COO-) لسهولة فقدها البروتون في **الوسط القاعدي.**



- وتسلك سلوك القواعد لوجود مجموعة الأمين (NH2 ➔ NH3 +) ، حيث تكتسب مجموعة الأمين الشحنة الموجبة (NH3+) لسهولة ارتباطها بالبروتون المنفصل عن مجموعة الكربوكسيل في **الوسط الحمضي.**



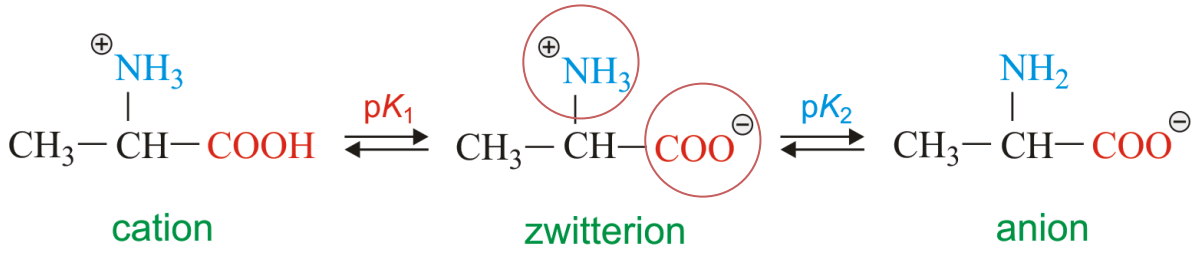
- يحمل الحمض الأميني الشحنة الموجبة في الوسط الحمضي.
- ويحمل الشحنة السالبة في الوسط القاعدي.



وبناءً على ذلك فإن تغيير الرقم الهيدروجيني للوسط الذي يوجد في الحمض الأميني يؤدي إلى تغيير محصلة الشحنات عليه، وبالتالي على حركته في المجال الكهربي.

٥. نقطة التعادل الكهربي Isoelectric point (pI)

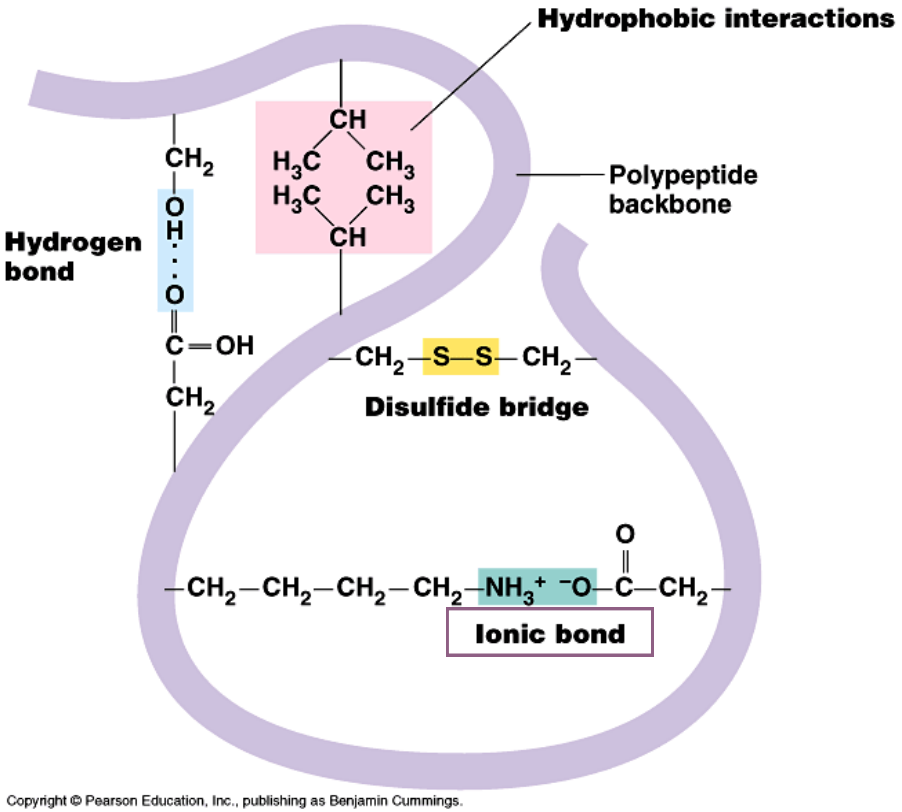
هي درجة الرقم الهيدروجيني pH الذي تتساوى فيه عدد الشحنات الموجبة والسالبة على الحمض الأميني، بمعنى أن تكون **محصلة الشحنات تساوي الصفر**، وعندها لا يتحرك الحمض الأميني لأي من القطبين السالب أو الموجب إذا وضع في مجال كهربي وبناءً عليه فإنه **يترسب بسهولة** عند هذه الدرجة.



(نقطة التعادل الكهربي)

٦. درجة الانصهار Melting point

تتميز بدرجات انصهار عالية وذلك بسبب وجود الروابط الأيونية بين جزيئات الحمض الأميني مما يجعلها صعبة الانصهار لذلك يجب تعريضها لدرجات حرارة عالية تصل إلى (٢٠٠ °م) فما فوق.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

الجزء العملي

الاختبارات العامة و الوصفية للأحماض الأمينية (Qualitative tests of amino acids):

١. الذوبانية.

٢. **النـنهايدرن** للكشف عن الأحماض الأمينية من النوع ألفا α.

٣. **الزانثوبروتيك** للكشف عن حلقة البنزين الموجودة في الأحماض الأمينية العطرية.

٤. **ساكاجوتشي** للكشف عن مجموعة الجوانيدين (Guanidine).

٥. **اختبار كبريتيت الرصاص** للكشف عن الأحماض الأمينية التي تحتوي على الكبريت

٦. **ميلون** للكشف عن مجموعة الهيدروكسي فينايل.

أولاً: اختبار الذوبانية (Solubility of amino acid) :

الهدف:

اختبار ذوبانية الأحماض الأمينية في المحاليل القطبية و الغير قطبية و الأحماض و القواعد للاستدلال على السلوك القطبي و الخاصية الأمفوتيرية.

النظرية العلمية للاختبار:

تذوب الأحماض الأمينية في الماء لارتباط جزيئاتها المستقطبة بجزيئات الماء القطبية، ووجود المجموعات القاعدية (NH_3^+) و الحمضية (COO^-) تسهل ذوبان الأحماض الأمينية في القواعد و الأحماض.

طريقة العمل:

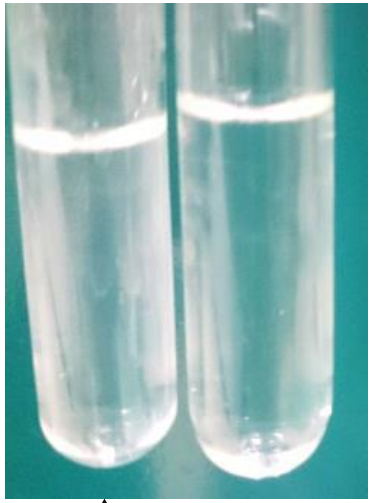
١- جهزي ٤ أنابيب اختبار (لكل من الجلايسين و الأرجنين) ثم ضعي ٤ مل من كل من المذيبات التالية: (ماء، كلوروفوم، هيدروكسيد الصوديوم 0.1M، حمض الهيدروكلوريك 0.1M).

٢- أضيفي ١ مل من الأحماض الأمينية.

٣- دوني ملاحظاتك.

النتائج:

المذيب	جلايسين	أرجينين
الماء		
كلوروفورم		
هيدروكسيد الصوديوم 0.1M		
حمض الهيدروكلوريد 0.1M		



المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

ثانياً: اختبار النينهايدرن (Ninhydrin test):

الهدف:

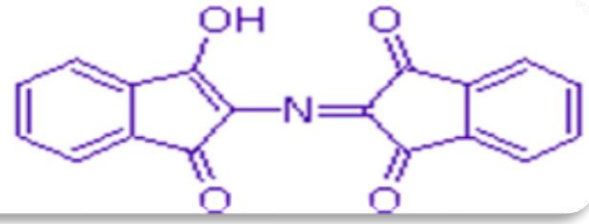
يعد أهم الاختبارات اللونية العامة للكشف عن الأحماض الأمينية من النوع ألفا α .

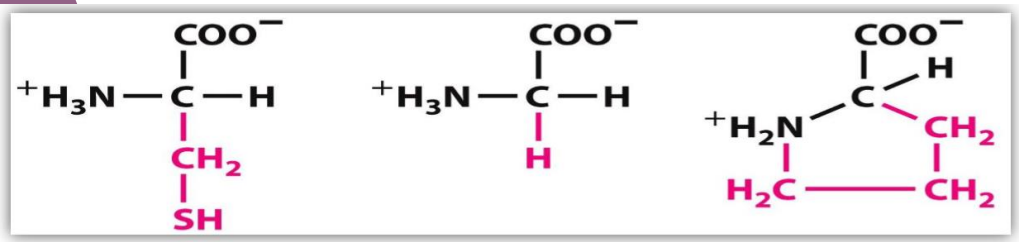
النظرية العلمية للاختبار:

يتفاعل النينهايدرن مع جميع الأحماض الأمينية من النوع ألفا (α) المحتوية على مجموعة أمين حرة (حيث أن مجموعة الأمين مرتبطة بذرة الكربون α) عند درجات حرارة عالية لتكوين المركب الوسطي هيدرين-دانتين والنشادر ويتصاعد ثاني أكسيد الكربون. ثم يتفاعل الهيدرين دانتين والنشادر مع جزئ آخر من النينهيدرين معطياً معقداً بنفسجي/أزرق اللون (blue violet).

←يستثنى من ذلك الحمض الأميني برولين حيث يعطي لون أصفر.

معقد بنفسجي/أزرق اللون
product



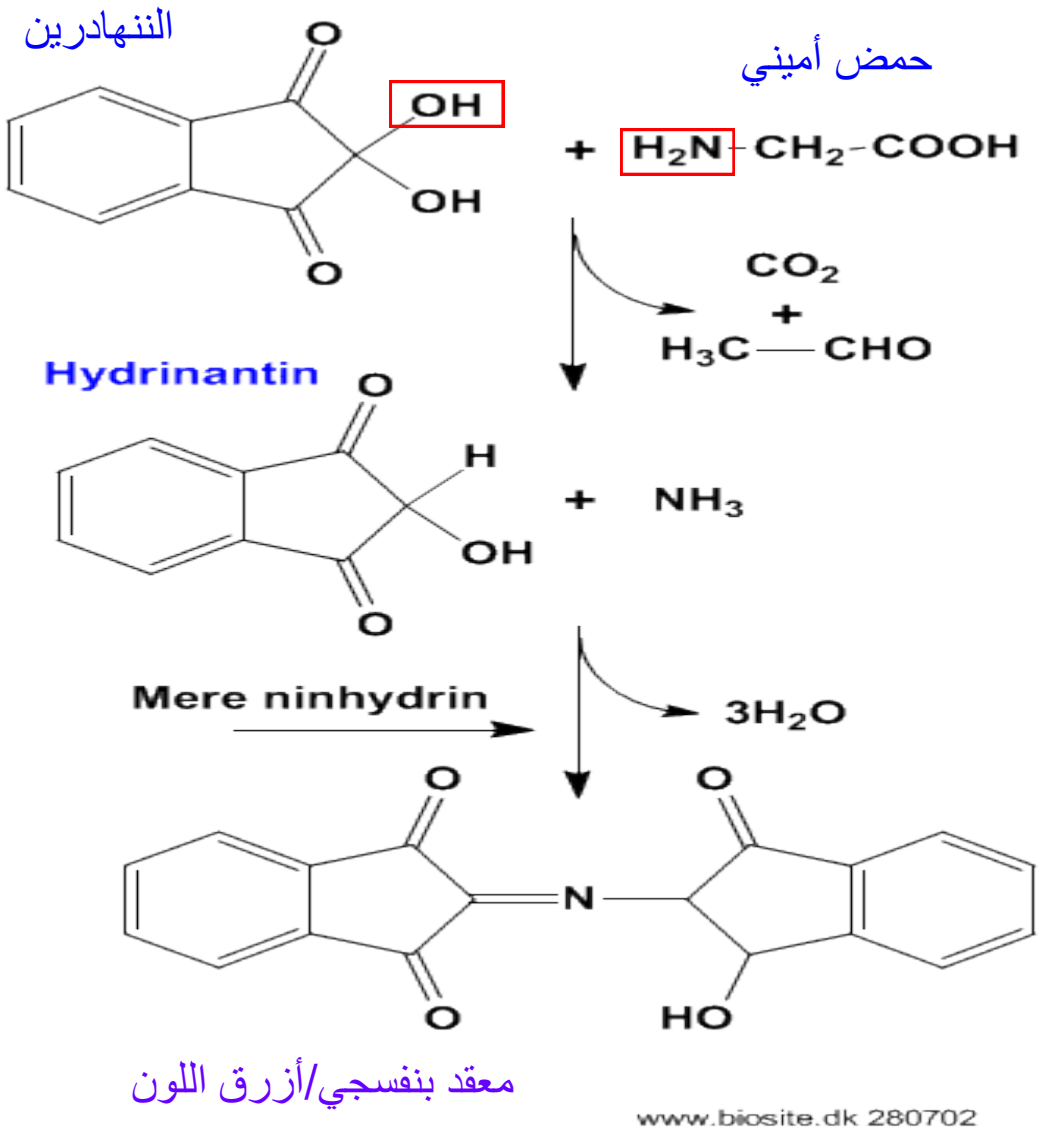


Cysteine Glycine Proline

لا يمتلك مجموعة
أمين حرة مرتبطة
بذرة الكربون α

النهادرين

حمض أميني



معقد بنفسجي/أزرق اللون

www.biosite.dk 280702

طريقة العمل:

١- أضيفي في كل أنبوب ١ مل من (جلايسين، تربتوفان، تايروسين، برولين).

٢- أضيفي ١ مل من محلول النينهايدرن في كل أنبوبة.

٣- رجي جيداً ثم ضعيها في حمام مائي يغلي لمدة دقيقتين، ثم سجلي ملاحظاتك.

النتائج:

الأنبوبة	الملاحظة	الاستنتاج
جلايسين (Glycine)		
تايروسين (Tyrosine)		
تربتوفان (Tryptophan)		
برولين (Proline)		

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

ثالثًا: اختبار الزانثوبروتيك (Xanthoproteic test):

الهدف:

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن حلقة البنزين الموجودة في الأحماض الأمينية العطرية –الأروماتية- (التايروسين و التربتوفان).

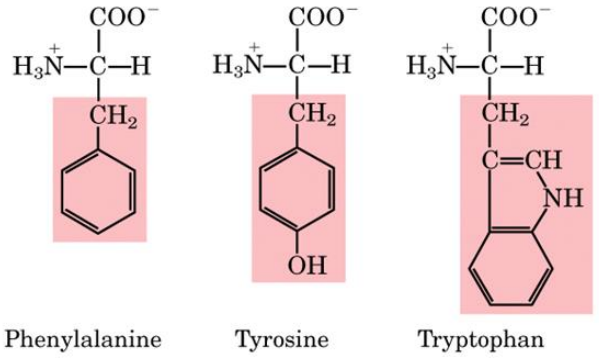
النظرية العلمية للاختبار:

تتفاعل الأحماض الأمينية العطرية المحتوية على حلقة بنزين مع حمض النيتريك المركز(HNO_3) عند درجات حرارة عالية (خاصة التايروسين وبدرجة أقل التربتوفان) مانحًا إياه مجموعة (NO_2) ترتبط مع حلقة البنزين، وتسمى هذه العملية النيترة (Nitration) التي ينتج عنها ظهور لون أصفر واضح .

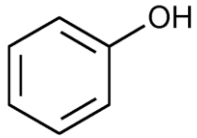
ملاحظات:

١-على الرغم من أن الفينايل ألانين (Phenylalanine) حمض اروماتي إلا أنه لا يعطي نتيجة إيجابية لأن **حلقة البنزين غير نشطة** .

٢-جميع **الفينولات** تعطي نتيجة إيجابية في هذا الاختبار.

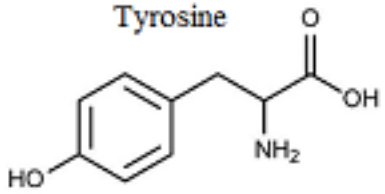


الأحماض الأمينية العطرية

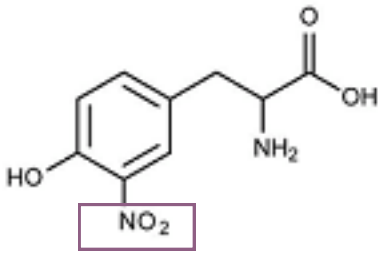


مجموعة الفينول

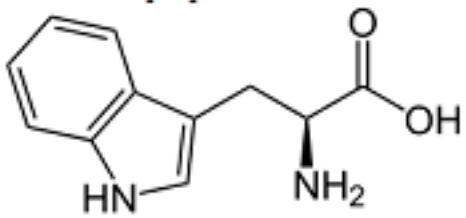
Tyrosine



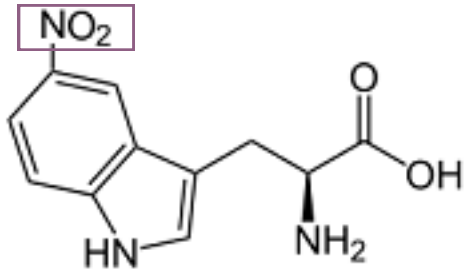
+ c. HNO_3 ⟶



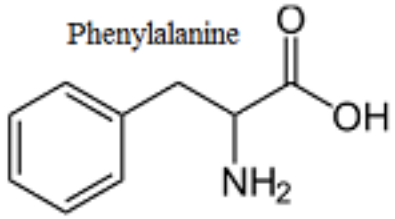
Trptophan



+ c. HNO_3 ⟶



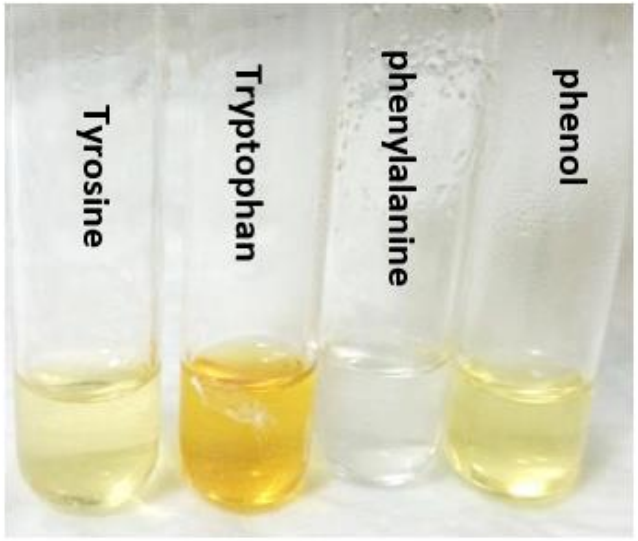
Phenylalanine



+ c. HNO_3 ⟶ ✕

↓

غير نشطة



طريقة العمل:

١- ضعي في كل أنبوبة اختبار٣ مل من التايروسين، فينايل ألانين، تربتوفان ، و فينول.

٢- أضيفي ١ مل من حمض النيتريك المركز **(بحذر)** ثم رجي جيداً.

٣- سخني الأنبوبة لمدة دقيقة واحدة (ظهور لون أصفر).

٤- أضيفي ٥ قطرات من هيدروكسيد الصوديوم المركز 10 M.

٥- دوني التغيير في كل الأنبوبة .

النتائج:

الأنبوبة	الملاحظة بعد إضافة الحمض	الملاحظة بعد إضافة القاعدة
تايروسين (Tyrosine)		
تربتوفان (Tryptophan)		
فينايل ألانين (Phenylalanine)		
فينول (Phenol)		

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

رابعًا: اختبار ساكاجوتشي (Sakaguchi test):

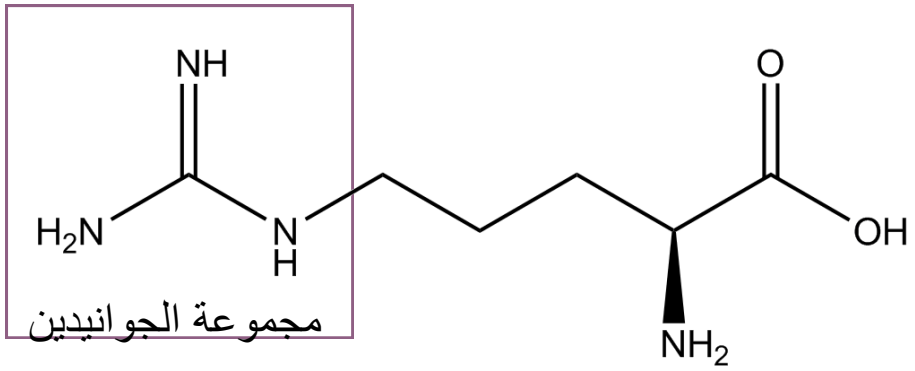
الهدف:

هو اختبار خاص يكشف عن مجموعة الجوانيدين (Guanidine) و التي تشكل جزء من الحمض الأميني أرجنين(Arginine).

- (التعرف على حمض أرجينين و تمييزه عن باقي الأحماض الأمينية).

النظرية العلمية للاختبار:

تتفاعل مجموعة الجوانيدين الموجودة في حمض أرجنين مع ألفا-نافثول في وجود الهيبوبروماين (ماء البروم) كعامل مؤكسد فيعطي معقد ذو لون أحمر غامق يدل على وجود هذه المجموعة وبالتالي وجود الحمض الأميني Arginine.



طريقة العمل:

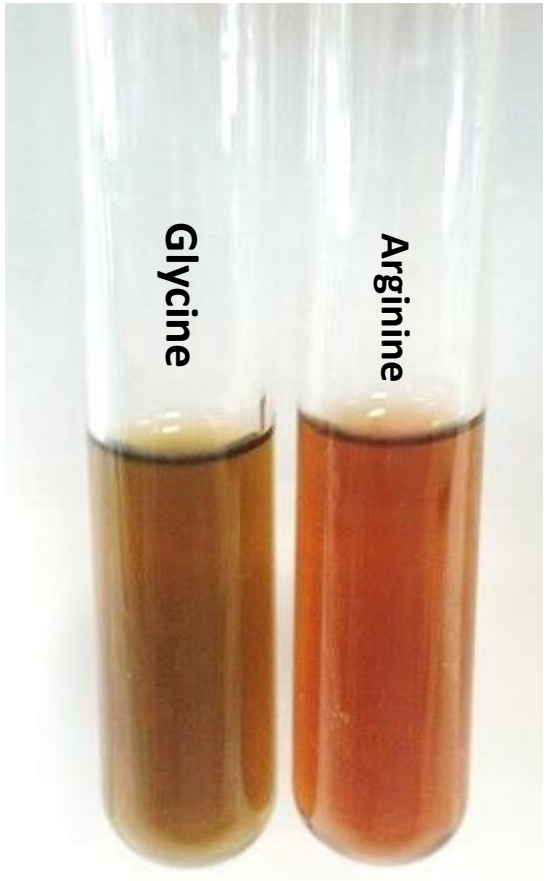
١- ضعي في أنبوبة اختبار ١ مل من الجلايسين و أخرى أرجنين.

٢- أضيفي ٢ مل من هيدروكسيد الصوديوم المركز ١٠M ثم رجي جيداً.

٣- أضيفي ٢مل من ألفا- نافثول.

٤- أضيفي ٥ قطرات من هايبوبروميت الصوديوم (ماء البروم) ثم رجي جيداً.

ملاحظة: اللون الأحمر الغامق (نتيجة إيجابية) بينما اللون الأصفر أو البني (نتيجة سلبية).



النتائج:

الأنبوبة	الملاحظة
جلايسين (Glycine)	
أرجنين (Arginine)	

المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

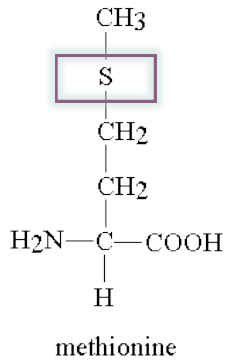
خامساً: اختبار كبريتيت الرصاص:

الهدف:

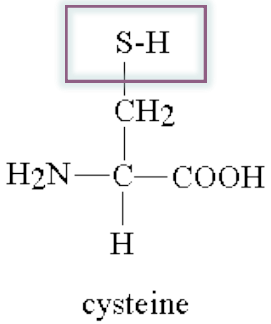
هذا الاختبار مميز للأحماض الأمينية المحتوية على مجموعة الكبريت في المجموعة الطرفية مثل :السيستين والميثونين .

النظرية العلمية للاختبار:

تسخين الأحماض الأمينية التي تحتوي على كبريت مع هيدروكسيد الصوديوم (قاعدة) يحول الكبريت العضوي إلى كبريت غير عضوي و الذي يتفاعل مع **أسيتات الرصاص معطيًا راسب أسود من كبريتيد الرصاص.**



methionine



cysteine

سادساً: اختبار ميلون (Millon test):

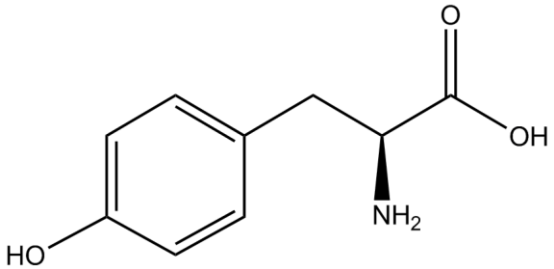
الهدف:

هو اختبار خاص للكشف عن مجموعة الهيدروكسي فينايل.

النظرية العلمية للاختبار:

تفاعل مجموعة الهيدروكسي فينايل في الحمض الأميني **تيروسين** مع كاشف ميلون (وهو عبارة عن أيونات الزئبق مذابة في أحماض النترات)

فيتكون راسب بني مُحمَر من أملاح الزئبق.



تيروسين

ملاحظة:

هذا الكاشف إيجابي أيضاً مع مركبات الفينول.

الأسئلة:

تجربة الذوبانية:

١- تذوب الأحماض الأمينية القطبية في الماء أكثر من الأحماض الأمينية الغير قطبية ( ).

تجربة النينهايدرين:

١- ما هو الحمض الأميني الذي يعطي اللون الاصفر بدلاً من البنفسجي مع هذا الاختبار ؟ و ما هو السبب ؟

تجربة الزانثوبروتيك:

١- ١-على الرغم من أن ..... حمض أروماتي إلا أنه لا يعطي نتيجة إيجابية لأن .....

٢- ما هي المجموعة الوظيفية المسئولة عن إعطاء النتيجة الإيجابية؟ وهل تقتصر هذه النتيجة على الأحماض الأمينية؟ ولماذا؟

تجربة ساكاجوتشي:

١- ما هو الحمض الأميني الذي يعطي نتيجة إيجابية مع هذا الاختبار؟

٢- يستخدم هذا الاختبار للكشف عن مجموعة ..... في الأحماض الأمينية.

تم بحمد الله ....